

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

**DIEGO DEL PINO**

**Tratamentos atuais para leishmaniose: terapias convencionais e alternativas**

**CURITIBA  
2010**

**DIEGO DEL PINO**

**Tratamentos atuais para leishmaniose: terapias convencionais e alternativas**

Monografia apresentada ao Departamento de Biologia Celular do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná como requisito parcial a conclusão do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Carolina Camargo de Oliveira

CURITIBA  
2010

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por toda minha vida e seu entorno, agradeço a minha família meu pai, minha mãe e meus irmãos pela confiança depositada e amor incondicional, à minha orientadora professora Dr<sup>a</sup> Carolina Camargo de Oliveira pela oportunidade concedida a mim, à professora Dr<sup>a</sup> Dorly de Freitas Buchi por me apresentar à minha orientadora, agradeço aos professores da graduação pelos ensinamentos transmitidos e pelo exemplo, também aos meus colegas de faculdade e à Universidade Federal do Paraná como um todo, por estar fazendo parte da minha vida nos últimos anos.

## RESUMO

A leishmaniose é considerada um grave problema de saúde pública, seja pela sua magnitude, ou pela sua elevada morbidade e letalidade. Dependendo da espécie de leishmania, a leishmaniose varia de uma doença cutânea relativamente confinada e controlada, a uma doença visceral progressiva e fatal. As drogas utilizadas no tratamento atual da leishmaniose apresentam diversos problemas incluindo a alta toxicidade e diversos efeitos colaterais o que leva os pacientes a abandonarem o tratamento, e consequentemente gera linhagens de leishmanias resistentes. Além disso, o alto custo dos compostos torna o tratamento muitas vezes inviável e longe de ser o ideal. A busca por novas alternativas terapêuticas para as leishmanioses é considerada uma linha estratégica e prioritária de pesquisa pela Organização Mundial de Saúde (OMS) pela elevada toxicidade, risco de resistência e alto custo dos medicamentos disponíveis. Este trabalho teve como objetivo fazer um levantamento dos atuais tratamentos para leishmaniose, enfocando as terapias convencionais e alternativas que estão sendo utilizadas no momento. Normalmente as leishmanioses do velho mundo tendem a cura espontânea, porém as do novo mundo necessitam de tratamento sistêmico. As opções de tratamento da leishmaniose são limitadas e longe de serem satisfatórias. O tratamento mais utilizado é com antimonial pentavalente, porém em alguns casos, outras drogas como pentamidina, anfotericina B, miltefosina e paromomicina são usadas como segunda opção. Na tentativa de evitar os problemas gerados pela administração dos medicamentos atuais algumas formas alternativas de tratamento tem sido desenvolvidas. Extratos de *Annona coriacea*, *Chenopodium ambrosioides*, *Perovskia abrotanoides* assim como compostos provenientes de *Piper betle*, *P. auritum*, *Laurencia dendroidea*, *Copaifera reticulata* demonstraram efeitos leishmanicida. Outras formas como crioterapia, terapia fotodinâmica, alopurinol e termoterapia são utilizadas. Tendo-se em vista os efeitos perniciosos causados aos pacientes pelos tratamentos convencionais, seja por prejudicar a saúde ou por inviabilidade financeira, faz-se necessária a busca de outros tratamentos menos prejudiciais e mais eficazes.

**Palavras chave:** leishmaniose, *Leishmania*, tratamento de leishmaniose, diagnóstico de leishmaniose.

## ABSTRACT

Leishmaniasis is considered a serious public health problem, either by their magnitude, or by high morbidity and mortality. Depending on the species of leishmania, leishmaniasis varies from a skin disease relatively confined and controlled to a progressive and fatal visceral disease. The drugs used in current treatment of leishmaniasis present several problems including high toxicity and various side effects which lead patients to abandon treatment, and consequently generate resistant strains of *Leishmania*. Moreover, the high cost of the drugs makes treatment impractical, and often far from ideal. The search for new therapies for leishmaniasis is considered a strategic and priority line of research by the World Health Organization for the high toxicity, resistance risk and high cost of available medicines. In the case of leishmaniasis, it is of great importance to search for effective treatments, inexpensive to produce and less toxicity to the patient. This work aimed to make a review of current treatments for leishmaniasis, focusing on conventional and alternative therapies being used at this time. Usually the old world leishmaniasis tends to heal spontaneously, but the new world ones require systemic therapy. The treatment options for leishmaniasis are limited and far from satisfactory. The most common treatment is with pentavalent antimony, but in some cases, other drugs such as pentamidine, amphotericin B, miltefosine and paromomycin are used as second choice. In an attempt to avoid the problems generated by the administration of current drugs some alternative forms of treatment have been developed. Extracts of *Annona coriacea*, *Chenopodium ambrosioides*, *Perovskia abrotanoides* as well as compounds from *Piper betle*, *P. auritum*, *Laurencia dendroides*, and *Copaifera reticulata* showed leishmanicidal effects. Other forms such as cryotherapy, photodynamic therapy, thermotherapy and allopurinol are being used. Bearing in mind the harm caused to patients by conventional treatments, whether by impairment of health or by financial viability, it is necessary to search and develop other treatments that are more efficient and less harmful.

**Key words:** leishmaniasis, *Leishmania*, leishmaniasis treatment, leishmaniasis diagnosis

## Sumário

<b>RESUMO.....</b>	<b>4</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>5</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>8</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>10</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>10</b>
<b>4. REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>11</b>
<b>4.1. Resultados da pesquisa .....</b>	<b>11</b>
<b>4.2. O protozoário.....</b>	<b>11</b>
4.2.1. Ciclo de vida.....	11
4.2.2. Sobrevivência no hospedeiro .....	13
<b>4.3. A doença .....</b>	<b>15</b>
4.3.1. Leishmaniose visceral (LV) .....	17
4.3.2. Leishmaniose cutânea (LC).....	17
4.3.3. Leishmaniose mucocutânea (LMC).....	18
4.3.4. Leishmaniose pós-calazar dérmica (LPCD) .....	18
4.3.5. Resposta imunológica a doença .....	21
4.3.6. Diagnóstico.....	22
4.3.6.1. Histórico .....	22
4.3.6.2. Raspagem .....	23
4.3.6.3. Aspirado .....	23
4.3.6.4. Citometria de fluxo e Imuno-ensaio Enzimático (ELISA) .....	23
4.3.6.5. PCR.....	24
<b>4.4. Tratamentos das leishmanioses .....</b>	<b>24</b>
4.4.1. Tratamentos convencionais.....	24
4.4.1.1. Antimonial Pentavalente.....	25
4.4.1.2. Pentamidina.....	26
4.4.1.3. Anfotericina B .....	27
4.4.1.4. Miltefosina .....	28
4.4.1.5. Azitromicina .....	28
4.4.1.6. Paromomicina.....	29
4.4.1.7. Nicotinamida.....	30
4.4.1.8. Nelfinavir e lopinavir .....	30
4.4.1.9. Vacinas.....	30
4.4.1.10. Considerações gerais sobre tratamentos convencionais .....	31
4.4.2. Tratamentos alternativos.....	32
4.4.2.1. <i>Annona coreacea</i> .....	33
4.4.2.2. <i>Chenopodium ambrosioides</i> .....	33
4.4.2.3. <i>Laurencia dendroidea</i> .....	34
4.4.2.4. <i>Perovskia abrotanoides</i> .....	34
4.4.2.5. <i>Copaifera reticulata</i> .....	34
4.4.2.6. Crioterapia .....	35
4.4.2.7. Terapia fotodinâmica .....	35

4.4.2.8. Complexo homeopático .....	36
4.4.3. <i>A Cura</i> .....	36
<b>5. CONCLUSÃO .....</b>	<b>38</b>
<b>6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>39</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Leishmaniose é o termo geral referente a uma gama de quadros clínicos causados por protozoários parasitas pertencentes ao gênero *Leishmania* e transmitido pela picada de certas espécies de mosquitos da subfamília Phlebotominae. As infecções por *leishmania* representam um problema de saúde de importância global, sendo a segunda maior causa de morte por parasita no mundo (depois da Malária).

Por muitos anos, o impacto socioeconômico e na saúde pública das leishmanioses, vem sendo ignorado. O estigma social causado pelas cicatrizes desfigurantes e deformidades causadas pelas leishmanioses cutânea (LC), mucocutânea (LM), pós-calazar dérmica (LPCD) além das mortes causadas pela leishmaniose visceral (LV) está relacionado ao desenvolvimento econômico do país. Cerca de 350 milhões de pessoas pelo mundo que vivem à 40° ao norte e ao sul do equador estão em risco (NEUBER, 2008). Aproximadamente 12 milhões de pessoas apresentam evidências clínicas de leishmaniose, e dois milhões de novos casos ocorrem anualmente - 1.5 milhões para leishmaniose cutânea e 500 mil para leishmaniose visceral (SAKTHIANANDESWAREN; FOOTE e HANDMAN, 2009). Embora a doença seja endêmica em mais de 60 países, e haja 200 milhões de pessoas em risco, 90% dos 500.000 casos que surgem a cada ano estão em cinco países apenas (GRIENSVEN *et al.*, 2010). Noventa por cento das infecções anuais de leishmaniose visceral (LV) ocorre na Índia, Nepal, Bangladesh e Brasil sendo que se estima que na Índia ocorra cerca de 100.000 casos anualmente. Destes, o estado de Bihar conta com mais de 90% dos casos. Do mesmo modo, 90% dos casos de leishmaniose cutânea ocorrem no Afeganistão, Brasil, Peru, Arábia Saudita e Síria, enquanto que 90% dos casos de leishmaniose muco cutânea ocorrem na Bolívia, Brasil e Peru. A incidência da doença tem aumentado devido à epidemia do vírus HIV, ao aumento do turismo internacional, da falta de vacinas eficazes, a dificuldade de controle dos vetores e do desenvolvimento de resistência a quimioterapia específica ([www.who.int/health-topics/leishmaniasis.htm](http://www.who.int/health-topics/leishmaniasis.htm), acessado em jan/2010). Vale enfatizar que pacientes infectados com leishmania e HIV são reservatórios



naturais para o desenvolvimento e disseminação de cepas resistentes, necessitando de cuidados especiais (GRIENSVEN *et al.*, 2010).

Embora não se conheça exatamente o mecanismo de desenvolvimento da doença, assim como os detalhes da sua progressão, existem algumas formas de tratamento para esta doença. As drogas utilizadas no tratamento atual da leishmaniose apresentam diversos problemas incluindo a alta toxicidade e diversos efeitos colaterais o que leva os pacientes a abandonarem o tratamento, e consequentemente gera linhagens de *leishmanias* resistentes. Além disso, o alto custo dos compostos torna o tratamento muitas vezes inviável e longe de ser o ideal (YARDLEY *et al.*, 2002; SINGH e SIVAKUMAR, 2004). Entretanto a terapia combinada para o tratamento da leishmaniose visceral tem sido cada vez mais defendida como uma forma de aumentar a eficácia e a tolerância do paciente ao tratamento, reduzir a duração e o custo do tratamento e limitar o surgimento de resistência à droga (GRIENSVEN *et al.*, 2010).

## **2. OBJETIVOS**

Realizar uma revisão bibliográfica sobre o fenômeno da interação parasita-hospedeiro da doença conhecida como leishmaniose, sua ocorrência e distribuição no mundo, métodos diagnósticos, sintomas, bem como realizar um levantamento sobre tratamentos atuais da doença demonstrando as terapias convencionais e alternativas utilizadas.

## **3. MATERIAL E MÉTODOS**

Buscas na internet (“world wide web”) foram realizadas a fim de identificar trabalhos relacionados com o tratamento atual das leishmanioses. Websites de base de dados como Medline (Pubmed), Science Direct e o Portal da CAPES foram utilizados para o levantamento bibliográfico.

## 4. REVISÃO DA LITERATURA

### 4.1. Resultados da pesquisa

TERMOS PESQUISADOS	TOTAL DE ARTIGOS	ARTIGOS DE ACESSO LIVRE
LEISHMANIASIS	16.698	3470
LEISHMANIASIS TREATMENT	6720	1455
LEISHMANIAIS DIAGNOSIS	7252	1580
LEISHMANIASIS CURE	533	128

### 4.2. O protozoário

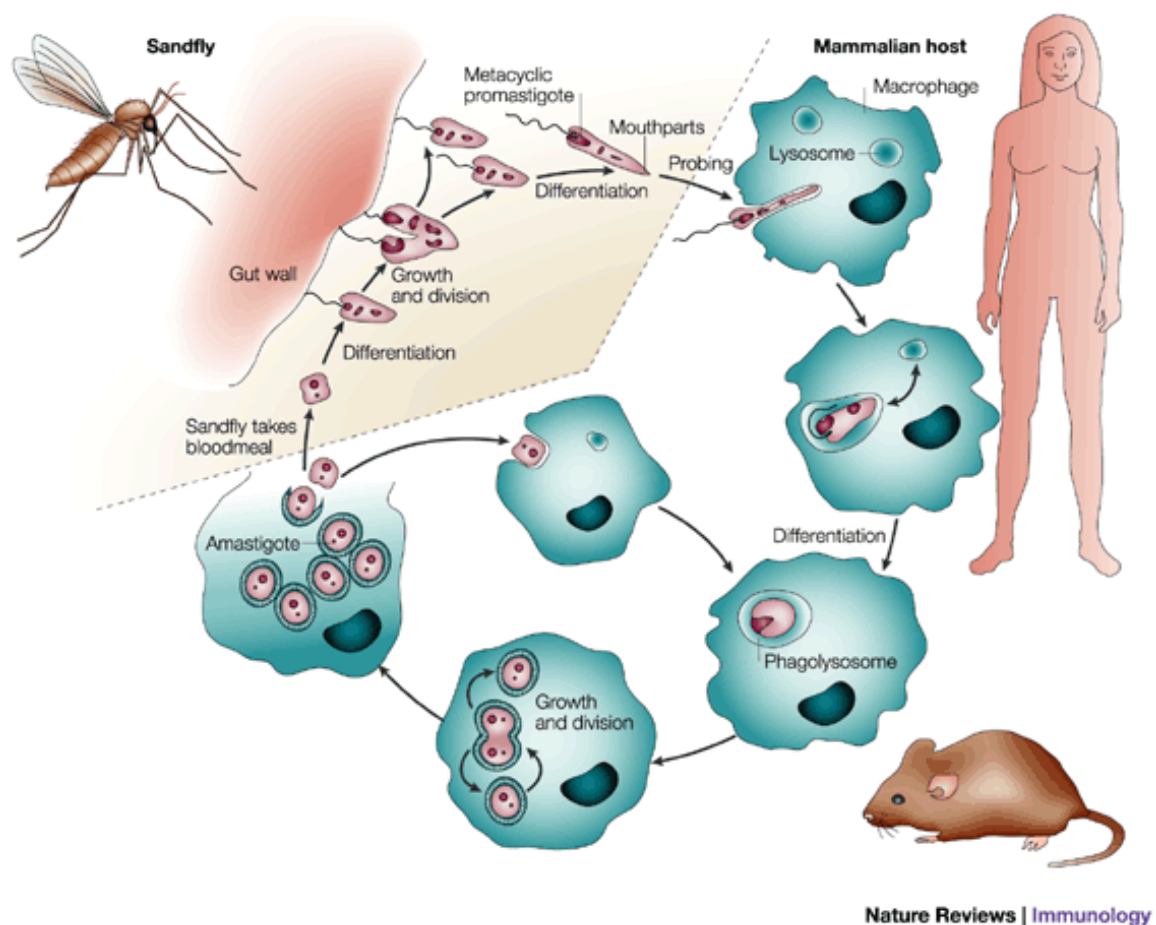
O protozoário *leishmania* foi descrito pela primeira vez em 1903 por Leishman e Donovan, trabalhando separadamente. Desde então este organismo é caracterizado como pertencente a um grupo complexo de espécies dos quais pelo menos 20 causam infecções em humanos (MARKLE; MAKHOUL, 2004).

#### **4.2.1. Ciclo de vida**

O parasita é transmitido pela picada da fêmea infectada do mosquito: *Phlebotomus* no Velho Mundo e *Lutzomyia* no Novo Mundo (América do sul e central) (SHARMA; SINGH, 2008). Existem mais de 500 espécies de flebotomíneos conhecidas, mas apenas 30 foram descritas como as transmissoras de leishmaniose. Os mosquitos flebotomíneos são encontrados em torno de habitações humanas e se reproduzem especificamente sobre resíduos orgânicos como fezes, estrume, tocas de roedores e lixo. (MARKLE; MAKHOUL, 2004). A fêmea precisa de sangue para sua nutrição e para obter as proteínas necessárias ao desenvolvimento dos ovos. Em sua busca por sangue ela cobre uma área de poucos a centenas de

metros ao redor do seu habitat. Elas picam ao final da tarde e à noite principalmente. Contudo, existem exceções à esta regra como por exemplo o *Lutzomyia wellcomei* que se alimenta durante o dia. Devido ao pequeno tamanho, aproximadamente 2mm de comprimento, esses são capazes de atravessar telas para mosquitos. Sendo assim tornam-se uma ameaça constante e eficientes vetores para a *leishmania*.

Em seu ciclo de vida, as diferentes espécies de *leishmania* alternam entre duas fases distintas de desenvolvimento, promastigota e amastigota. Promastigotas possuem flagelo, e sendo assim possuem motilidade e são consideradas a fase infectiva desse parasita. O promastigota, em aproximadamente 10 dias, se multiplica no mosquito e se desenvolve em sua forma metacíclica que é infecciosa. O parasita penetra no hospedeiro humano através da picada do mosquito e, uma vez inoculado, é reconhecido e fagocitado pelos macrófagos do sistema imunitário (MARKLE; MAKHOUL, 2004). No hospedeiro, os promastigotas metacíclicos se transformam em amastigotas (sem flagelo e medindo cerca de 2 a 7 microns de diâmetro) dentro de um vacúolo, denominado vacúolo parasitóforo (VP). Os VP tem as mesmas propriedades de endossomas/lisossomas incluindo pH baixo, presença de proteínas de membrana específicas de lisossomas, e hidrolases ácidas (ANTOINE *et al.*, 1998; MOREHEAD *et al.*, 2002). Depois da transformação, os amastigotas se multiplicam dentro dos macrófagos e finalmente os macrófagos estouram liberando os amastigotas para infectar outros macrófagos (SHARMA e SINGH, 2008). Eventualmente, um mosquito vai se infectar com esta forma durante sua alimentação, e assim essa se desenvolve na forma promastigota novamente no inseto, fechando o ciclo (MARKLE; MAKHOUL, 2004).



**FIGURA 1: Ciclo de vida da leishmania**

Fonte: Sacks e Noben-Trauth, 2002.

#### 4.2.2. Sobrevivência no hospedeiro

Vários patógenos humanos se proliferam dentro de macrófagos. Os parasitas usam estratégias específicas para evitar sua destruição e prejudicar a resposta imunitária do hospedeiro. Apesar de muitos patógenos escaparem das respostas microbicidas dos macrófagos através da subversão ou escape do mecanismo de fagocitose, os protozoários pertencentes ao gênero *Leishmania* desenvolveram mecanismos de sobrevivência e proliferação dentro do fagolisossomo do macrófago (NADERER *et al.*, 2007), mesmo no microambiente inóspito (HALL; JOINER, 1991). Dentro do ambiente ácido do lisossomo a *leishmania* é capaz de sobreviver transformando-se em sua forma amastigota. É essa forma amastigota que causa a

doença e afeta a imunidade celular (MARKLE; MAKHOUL, 2004). Essa é uma questão importante no estudo da patogênese das diferentes espécies de *leishmania*. Uma vez que os neutrófilos estão envolvidos na destruição de patógenos invasores e na ativação do sistema imunitário, é de se esperar que as diferentes espécies de *leishmania* tenham desenvolvido mecanismos de escape ou atenuação das funções normais dos fagócitos (OLIVER *et al.*, 2005; GREGORY e OLIVIER, 2005).

Os processos pelos quais a *leishmania* invade, sobrevive e se multiplica dentro das células do hospedeiro, como os macrófagos, as células dendríticas e neutrófilos, não são bem compreendidos. Sabe-se que uma vez dentro das células fagocíticas, o parasita passa por um processo dinâmico no vacúolo parasitóforo. A morfologia e pelo menos algumas características do vacúolo parasitóforo diferem de espécie para espécie (FORTÉA, 2007). A GTPase Rab5 exerce um papel chave na maturação do endossomo/fagossomo e em infecções intra vesiculares. Essa marca um estágio do fagossomo no qual são tomadas decisões sobre a replicação do patógeno ou sua destruição (LIPPUNER *et al.*, 2009).

Para sobreviver dentro do fagolisossoma os amastigotas de *Leishmania* necessitam de algumas moléculas básicas. Como revisado por NADERER *et al.*, em 2007 os amastigotas devem internalizar nutrientes de baixo peso molecular (como hexoses, aminoácidos, poliaminas, purinas e vitaminas) e cátions ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ) via transportadores de membrana plasmática, geralmente de forma competitiva com os transportadores da membrana do fagolisossoma. Geralmente macromoléculas como proteínas, carboidratos, DNA e RNA são internalizados no vacúolo por endocitose. Grupamentos heme podem ser obtidos através da endocitose de proteínas do hospedeiro. Provavelmente uma junção de oclusão é formada entre a membrana posterior do amastigota com a membrana do fagolisossoma na tentativa de utilizar os lipídios do hospedeiro.

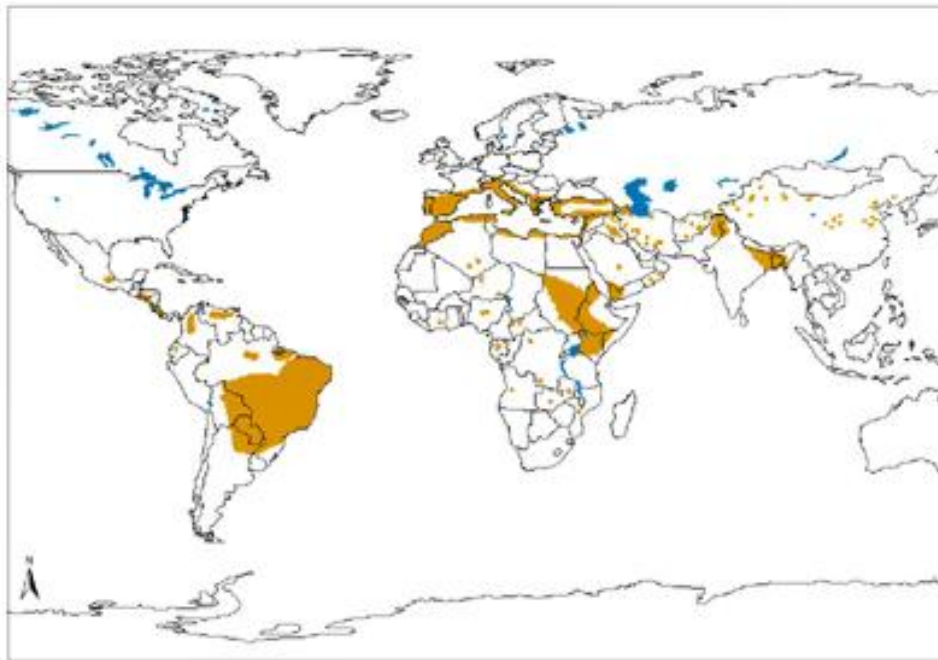
As espécies de *leishmania* são mestres em manipular o sistema imunitário dos hospedeiros, induzindo a resposta deste à infecção. O sistema imune é induzido a produzir citocinas que promovem a progressão da doença, como por exemplo, a IL-10, uma citocina helicoidal classe II, com alto poder inibitório do sistema imunitário (YANG; MOSSER; ZHANG, 2007). Os linfócitos T contribuem com um importante papel na resposta imunitária do hospedeiro por produzirem citocinas, que podem

atuar tanto em sinergia como antagonicamente, através de complexas vias de sinalização, indicando tanto a proteção como a não proteção contra os parasitas (CUMMINGS *et al*, 2009).

### **4.3. A doença**

Dependendo da espécie de *leishmania*, a leishmaniose varia de uma doença cutânea relativamente confinada e controlada (leishmaniose cutânea), a uma doença visceral progressiva e fatal (leishmaniose visceral). Os sintomas mais comuns da leishmaniose são lesões na pele que aparecem semanas ou meses depois que a pessoa infectada é picada pelo mosquito. Outros sintomas clínicos são caracterizados por febre prolongada muitas vezes associadas a calafrios, esplenomegalia, linfadenopatia, hepatomegalia, pancitopenia, anemia progressiva, perda de peso e hipergamaglobulinemia (principalmente IgG, depois da ativação policlonal de células B), com hipoalbumemia. Entretanto os sintomas da doença dependem de uma série de fatores como espécie de parasita envolvido, fatores genéticos do hospedeiro que determinam uma resposta mais ou menos eficiente. É fatal se não tratada (MISHRA *et al.*, 2010).

A doença tem sido separada tradicionalmente em dois grupos: leishmaniose do velho mundo e do novo mundo. Essas categorias se referem às regiões geográficas onde a infecção é adquirida. *Leishmanias* do velho mundo se referem às espécies da região mediterrânea, como Oriente Médio, Ásia, África e o sul da Europa. As espécies do novo mundo se referem às encontradas nas Américas Central e do Sul. A virulência, patogenicidade e manifestações clínicas dos tipos de leishmanioses, dependem da espécie de *leishmania* em questão. Entendendo a distribuição geográfica da *leishmania* pode-se inferir qual é o grupo específico de espécies e ditar o regime de tratamento, antecipação do prognóstico clínico e a progressão da doença (DAVID e CRAFT, 2009).



**FIGURA 2: Distribuição geográfica da leishmaniose visceral no novo e velho mundo.** Fonte: WHO/NTD/IDM HIV/AIDS, Tuberculosis and Malaria (HTM) World Health Organization, October 2010



**FIGURA 3: distribuição geográfica da leishmaniose cutânea e mucocutânea no novo mundo.** Fonte: WHO/NTD/IDM HIV/AIDS, Tuberculosis and Malaria (HTM) World Health Organization, October 2010



#### **4.3.1. Leishmaniose visceral (LV)**

A leishmaniose visceral (LV), calazar ou febre dumdum é mais severa que as outras formas clínicas de leishmaniose e pode ser causada pelas seguintes espécies *Leishmania (leishmania) donovani*, na China, Índia, Irã, Kenya e Etiópia, *L. infantum* nos países do mediterrâneo e *L. chagasi* no Brasil, Colômbia, Venezuela e Argentina. Aproximadamente 500 mil pessoas são afetadas por ano, principalmente na Índia, Sudão, e países da America Latina (WENIGER *et al.*, 2001; GONTIJO e MELO, 2004).

Esses parasitas afetam principalmente o fígado e o baço promovendo esplenomegalia e hepatomegalia (CARVALHO *et al.*, 2000) bem como afetam a células sanguíneas, diminuindo sua contagem (ROMERO; BOELAERT, 2010). Além disso, pode haver uma progressiva deterioração das vísceras do hospedeiro, com a consequente perda de função desses órgãos, entre outras alterações severas que podem ser fatais caso um tratamento eficiente não seja aplicado. Hemorragias e edemas podem se desenvolver durante a manifestação da doença (MALTEZOU, 2009 e CROFT *et al.*, 2006). A situação é ainda pior em pacientes imunodeprimidos, onde a *leishmania* se torna um agente oportunista, levando a casos clínicos não comuns e resistentes aos tratamentos rotineiros (revisado por SANTOS *et al.*, 2008).

Esse tipo de doença é caracterizada pela ausência de citocinas como IFN- $\gamma$  e IL-12. A cura desta forma da doença parece estar relacionada com a capacidade de produzir estas citocinas (BACELLAR *et al.*, 2000).

#### **4.3.2. Leishmaniose cutânea (LC)**

A leishmaniose cutânea (LC) ou tegumentar é caracterizada por uma lesão tipo vulcão na pele (pápula ou úlcera), em pacientes imuno competentes pode desaparecer, entretanto os parasitas podem continuar no hospedeiro ao longo da vida (BOGDAN *et al.*, 1996, 2000; MENDONÇA *et al.*, 2004; SCHUBACH *et al.*, 1998).

Esta forma da doença começa com vermelhidão e inchaço na área da picada do mosquito e depois de 3 ou 4 semanas se apresenta como uma úlcera plana,

indolor, com a margem elevada formando a lesão (NEUBER, 2008). Os pacientes podem apresentar uma ou mais lesões, cada lesão representa uma picada de mosquito independente da outra. A leishmaniose cutânea é causada pelas espécies *L mexicana*, *L (Viannia) braziliensis*, ou *L panamensis* nas Américas, *L major* no oriente médio, oeste e norte da África e Quênia, *L tropica* nos países do mediterrâneo e no Afeganistão e pela *L aethiopica* na Etiópia. *L major* e *L tropica* tendem a ser menos severas, de cura mais rápida e de curso relativamente benigno. Independente da espécie causadora a LC não é fatal. Entretanto, as lesões causadas podem levar ao desfiguramento e ao estigma social. Em uma pequena porcentagem dos casos o tratamento inadequado das lesões primárias da LC pode levar ao desenvolvimento da leishmaniose muco-cutânea (DAVID e CRAFT, 2009).

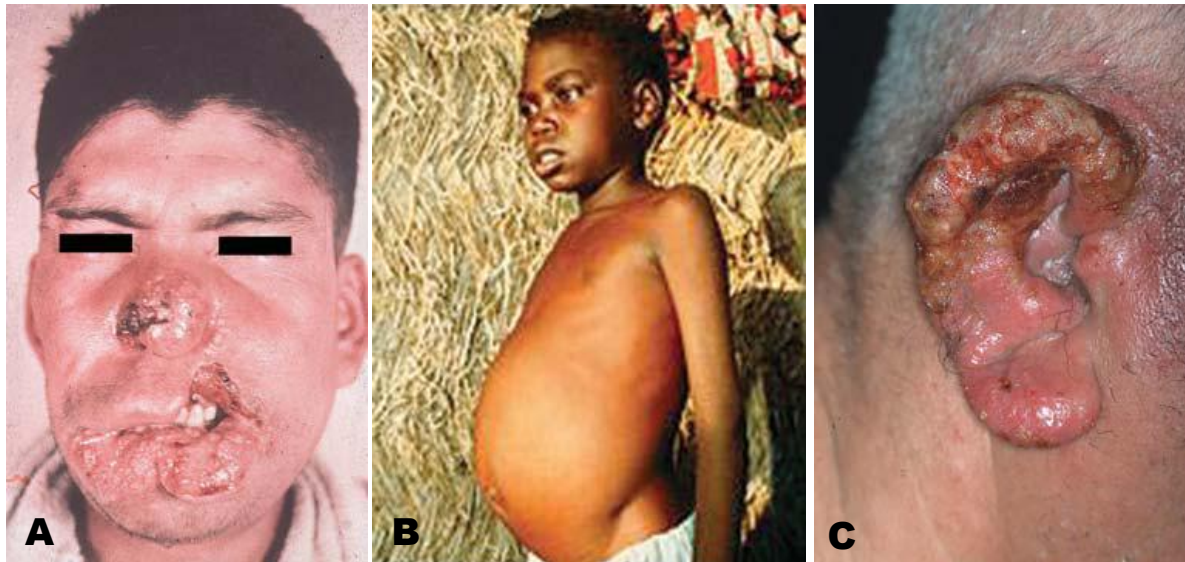
#### **4.3.3. Leishmaniose mucocutânea (LMC)**

A leishmaniose mucocutânea (LMC) é causada pela *L brasilienses* no Brasil, Peru, Equador, Colômbia e Venezuela. A leishmaniose mucocutânea pode decorrer de uma complicação da LC. O parasita pode se deslocar e se alojar nas mucosas e depois de um intervalo de meses ou anos a infecção pode apresentar ulcerações e erosões na região nasofaríngea (NEUBER, 2008). Devido provavelmente à disseminação do parasita através do sistema linfático e a colonização das mucosas, essas ficam destruídas e o paciente fica permanentemente desfigurado, desnutrido e propenso ao comprometimento respiratório ficando suscetível a infecções bacterianas. Diferentemente das lesões da LC, as lesões de LMC não são auto cicatrizantes (SAKTHIANANDESWAREN; FOOTE e HANDMAN, 2009).

#### **4.3.4. Leishmaniose pós-calazar dérmica (LPCD)**

Outro caso é a leishmaniose pós-calazar dérmica (LPCD) que é resultado de complicações no tratamento da leishmaniose visceral e resulta na presença de muitas pápulas hipopigmentadas ou nódulos na pele. Esses pacientes são considerados reservatórios em potencial das formas antroponóticas de leishmaniose,

devido ao elevado número de parasitas em sua pele (SAKTHIANANDESWAREN; FOOTE e HANDMAN, 2009).



**FIGURA 4: Manifestações clínicas de leishmaniose.** Fig A Leishmaniose mucocutânea, Fig B Leishmaniose visceral e Fig C Leishmaniose cutânea. Fonte: adaptado de NEUBER, 2008.

A tabela abaixo fornece os quatro tipos de leishmaniose e os seus causadores, bem como sua distribuição no mundo.

<b>PATOLOGIA</b>	<b><i>Leishmania spp.</i></b>	<b>REGIÃO OU PAÍS</b>
LC	<i>Leishmania major</i>	Continente Africano e Oriente Médio
	<i>Leishmania tropica</i>	Continente Africano e Oriente Médio
	<i>Leishmania aethiopica</i>	Continente Africano e Oriente Médio
	<i>Leishmania venezuelensis</i>	América do sul
	<i>Leishmania mexicana</i>	América do sul
	<i>Leishmania amazonensis</i>	América do sul
	<i>Leishmania brasiliensis</i>	América do sul
	<i>Leishmania panamensis</i>	América do sul
	<i>Leishmania peruviana</i>	América do sul
	<i>Leishmania guyanensis</i>	América do sul
	<i>Leishmania donovani</i>	Mediterrâneo e região do mar Cáspio
	<i>Leishmania infantum</i>	Mediterrâneo e região do mar Cáspio
LMC	<i>Leishmania brasiliensis</i>	América do sul
	<i>Leishmania panamensis</i>	América do sul
	<i>Leishmania guyanensis</i>	América do sul
	<i>Leishmania amazonensis</i>	América do sul
	<i>Leishmania mexicana</i>	América do sul
LV	<i>Leishmania donovani</i>	Continente Africano, Oriente Médio, e Índia
	<i>Leishmania chagasi</i>	África, Oriente Médio e Bacia do mediterrâneo
	<i>Leishmania infantum</i>	África, Oriente Médio e Bacia do Mediterrâneo
	<i>Leishmania archibaldi</i>	África, Oriente Médio e Bacia do Mediterrâneo
	<i>Leishmania tropica</i>	Oriente Médio
	<i>Leishmania amazonensis</i>	América do sul
LPCD	<i>Leishmania donovani</i>	Continente Africano, Oriente Médio e Índia

**TABELA 1: Correlações entre espécies de *Leishmania*, quadro clínico e localização geográfica.** LC = Leishmaniose cutânea, LMC = leishmaniose mucocutânea, LV = leishmaniose visceral, LPCD – leishmaniose pós calazar dérmica. (Fonte: SAKTHIANANDESWAREN; FOOTE e HANDMAN, 2009).

#### 4.3.5. Resposta imunológica a doença

Apesar da resolução da doença ocorrer em alguns casos de leishmaniose, o fígado, baço e medula óssea permanecem cronicamente infectados com o parasita. Até hoje pouco é conhecido sobre a resposta imune no baço, assim como os requisitos para o controle dos parasitas nesse órgão. A resposta Th1, a produção de IL-12 e células CD8 estão definitivamente envolvidas, em parte limitando o crescimento do parasita durante a infecção crônica. Em contraste, TNF-alfa é uma citocina essencial para o clearance do parasita no fígado. Além disso, o baço monta uma resposta regulatória dominado por células CD4. As estratégias adotadas pela *Leishmania* para fugir da resposta imune no baço e os motivos pelos quais o IFN produzido na resposta Th1 é incapaz de controlar a multiplicação do parasita no baço permanecem desconhecidos. Dentre os inúmeros mecanismos de evasão da resposta imunológica que foram propostos no passado, a indução da resposta imune supressora IL-10 as respostas é o mais proeminente (BANKOTI *et al*, 2010).

Os mecanismos imunológicos que fundamentam os resultados da infecção ou a progressão e disseminação sistêmica da leishmania não foram elucidados completamente até agora (MALTEZOU, 2009). Alguns estudos mostram o comportamento do sistema imunitário ao decorrer desta infecção. Foi mostrado que células imunitárias (macrófagos, células dendríticas, células natural killer (NK), células T CD4+ e CD8+), citocinas (IFN e IL-12) e moléculas efetoras (como óxido nítrico - NO) produzido por indução da NO sintetase (iNOS) são componentes chave na resposta imunitário ao parasita (LIESE; SCHLEICHER e BOGDAN, 2007). As diferentes espécies de *leishmania* possuem capacidade de bloquear a resposta inflamatória e promover respostas antiinflamatórias. Sabe-se que a resposta imunitária do tipo Th1 protege o organismo contra a leishmaniose. Consequentemente, citocinas imuno supressivas (Th2) como, por exemplo, IL-10, IL-4 e TGF- $\beta$  inibem a resposta imunitária protetora Th1 (AWASTHI *et al.*, 2004). A evolução da resposta imunitária Th1 é favorecida pela produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-12, IL-18, IL-1, fator de necrose tumoral alpha (TNF- $\alpha$ ) e IL-6. As citocinas Th2 tem sido associadas a “desativação” dos macrófagos (LANG, 2005; VARIN e GORDON, 2009) e foi demonstrado que a quantidade da produção dessas

citocinas por macrófagos infectados com *leishmania* está aumentada (TEIXEIRA *et al.*, 2006). Junto com a indução das citocinas imuno supressoras, as diferentes espécies de *leishmania* desenvolveram mecanismos infectivos que não induzem a produção de citocinas pró inflamatórias. Uma vez infectadas, as células do sistema imunitário apresentam respostas defectivas a vários agentes indutores da resposta pró-inflamatórias (GREGORY e OLIVER, 2005). Por exemplo, a IL-12 possui papel crítico na regulação positiva das respostas Th1 e é um potente indutor de IFN- $\gamma$  levando a ativação dos macrófagos e subsequente aumento das atividades microbidas. Foram demonstradas correlações entre os padrões de produção de citocinas e o status clínico da leishmaniose, sugerindo que células após entrarem em contato com a *leishmania* são direcionadas ao desenvolvimento da doença (CORREA-OLIVEIRA *et al.*, 2005), através do bloqueio, por exemplo, da IL-12 (MCDOWELL e SACKS, 1999).

Em particular, os estudos sobre a diferenciação dos estágios infectantes dos mamíferos e biogênese do vacúolo parasitário da leishmania, bem como os numerosos eventos que ocorrem no remodelamento no compartimento fagocitário que continha o parasita foram fortemente beneficiados por essas técnicas microscópicas (LANG; LECOEUR e PRINA, 2009).

#### **4.3.6. Diagnóstico**

##### **4.3.6.1. Histórico**

Nos Estados Unidos para realização do diagnóstico, os médicos buscam histórico de viagens do paciente, expedições militares como, por exemplo, os soldados que serviram no Oriente Médio apresentavam grande chance de estarem infectados, também são solicitados exames de HIV já que a co infecção prejudica bastante o tratamento (MARKLE; MAKHOUL, 2004).

#### **4.3.6.2. Raspagem**

O primeiro passo para o diagnóstico é a raspagem de tecido lesionado, sendo que a presença de amastigotas pode ser evidenciada pela coloração com Giemsa. Se isto não ocorrer, mas ainda houver suspeita clínica, deve-se realizar uma biópsia, retirando parte da borda da úlcera e corá-la com Hematoxilina-eosina (H/E), assim os cinetoplastos dos amastigotas vão estar fortemente corados de roxo e evidenciados dentro dos macrófagos numa lâmina histopatológica (DAVID; CRAFT, 2009).

#### **4.3.6.3. Aspirado**

Outro teste diagnóstico utilizado é o chamado agulha aspirado, usado nas lesões nodulares e papulares, consiste na injeção de 0.1ml de solução salina livre de conservante, na borda da lesão, o fluido aspirado é adicionado a meio de cultura (sangue Agar Nicolle-Novy-McNeal).

#### **4.3.6.4. Citometria de fluxo e Imuno-ensaio Enzimático (ELISA)**

A citometria de fluxo e o ensaio imunoenzimático (ELISA) também são utilizados no diagnóstico da patologia. Embora a citometria de fluxo seja mais sensível à presença de formas promastigotas do parasita em geral, esta se revelou com menor especificidade que o extrato IgG-ELISA (SILVESTRE et al., 2009)

Uma superóxido dismutase excretada pela forma promastigota de *L. peruviana*, *L. brasiliensis*, *L. amazonensis* foi avaliada com alto potencial como ferramenta para diagnóstico de leishmaniose cutânea Andina e mucocutânea, os resultados são úteis em regiões endêmicas para ensaios discriminativos entre os pacientes com diferentes formas de leishmaniose e com outras condições clínicas (MARÍN et al., 2009).

Técnicas invasivas e arriscadas envolvendo a demonstração do parasito em preparações coradas de aspirado de medula óssea e baço ainda são muito utilizadas para o diagnóstico de leishmaniose visceral, a desvantagem dos testes

sorológicos como o ELISA ou testes imunocromatográficos como o de aglutinação direta (DAT), muitas vezes fornece resultados falso-positivos em pacientes saudáveis.

#### **4.3.6.5. PCR**

O teste mais sensível, porém não padronizado é o teste imunológico (PCR) reação em cadeia da polimerase, no qual os anticorpos são detectados principalmente na LMC, este teste é espécie específico (MARKLE; MAKHOUL, 2004).

Muitos médicos de áreas não endêmicas não estão familiarizados com as diferentes apresentações clínicas da leishmaniose e em alguns casos, deixam de diagnosticá-la corretamente, mesmo em pacientes que tenham viajado recentemente para regiões endêmicas de leishmaniose, correspondendo ao grupo de risco. Ainda que estes profissionais façam o exame de biopsia da pele, a leishmaniose pode ser mal diagnosticada em 80% dos casos (ZAGHI *et al.*, 2009). O exame de PCR (reação em cadeia da polimerase) permite que se determine rapidamente a espécie em questão. Uma abordagem de tratamento espécie específico tem sido muito valorizada e amplamente aplicada em vários centros (BLUM; HATZ, 2009).

### **4.4. Tratamentos das leishmanioses**

#### **4.4.1. Tratamentos convencionais**

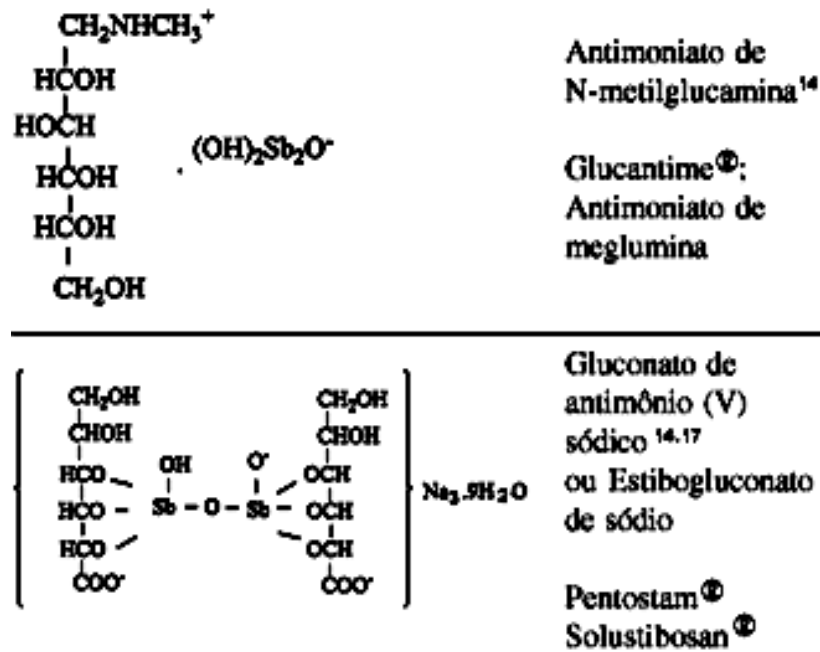
Normalmente as leishmanioses do velho mundo tendem a cura espontânea, porém as do novo mundo necessitam de tratamento sistêmico. As opções de tratamento da leishmaniose são limitadas e longe de serem satisfatórias. Devido a variações regionais em resposta às drogas leishmanicidas as recomendações para o tratamento da LV variam em diferentes regiões. Além disso, existem cerca de 20 espécies de *Leishmania* conhecidas por serem infectantes para os seres humanos e há variações na sensibilidade intrínseca entre as espécies de *Leishmania* às várias drogas.



#### 4.4.1.1. Antimonial Pentavalente

Indiscutivelmente a forma mais consolidada de se fazer o tratamento da leishmaniose é com antimonial pentavalente, principalmente nas formas de estibogluconato de sódio e antimoniato de N-metilglucamina utilizado desde 1940 (BERMAN 1988; OLLIARO e BRYCESON, 1993; RAHT *et al.*, 2003 e revisado por SANTOS *et al.*, 2008). Em alguns casos, outras drogas como pentamidina, anfotericina B, miltefosina e paromomicina são usadas como segunda opção em casos resistentes, mesmo com a alta toxicidade desses compostos para o hospedeiro. Porém muitos outros métodos são utilizados como a crioterapia, terapia fotodinâmica, alopurinol e termoterapia (DAVID; CRAFT, 2009).

O antimonial pentavalente é considerado o tratamento de primeira linha contra muitas espécies de *leishmania*, a base bioquímica de sua eficácia é parcialmente desconhecida. Compostos de antimoniais pentavalente são tratamento de escolha na África, América do Sul, Bangladesh, Nepal e Índia (com exceção do Norte Bihar) na dose de 20 mg/kg/dia por via parentérica de 28-30 dias (CHAKRAVARTY e SUNDAR, 2010). Os antimoniais pentavalentes atuam inibindo a atividade bioenergética das formas amastigotas da *leishmania*, por meio de glicólise e beta-oxidação, que ocorrem no glicossoma, organelas que abriga enzimas que agem na via glicolítica. Outro mecanismo aventado é o de ligação com sítios sulfidrílicos, deflagrando a morte destes protozoários (BERMAN *et al.*, 1985). Além disso, parece estar ligado à inibição de ATP sintetase (BLUM; HATZ, 2009) e a inibição da tripanotona redutase (DAVID; CRAFT, 2009). Esses medicamentos possuem alta incidência de efeitos colaterais, como mialgia, rigidez articular, dor abdominal, anorexia, alterações eletrocardiográficas, bradicardia. Graves, mas raros são hepatotoxicidade, pancreatite, anemia hemolítica, nefrotoxicidade e anafilaxia (DAVID; CRAFT, 2009).

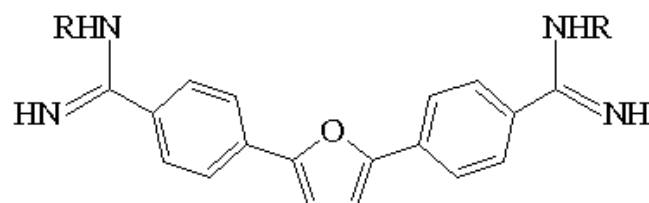


**Figura 5:** Fórmula química de antimoniais pentavalentes nas formas de antimoniato de N-metilglucamina e estibogluconato de sódio.

#### 4.4.1.2. Pentamidina

A pentamidina usada como alternativa para o antimonial pentavalente tem sua atividade relacionada à interferência na síntese de DNA, alteração na morfologia do cinetoplasto e fragmentação da membrana mitocondrial da *leishmania* (CROFT e BRAZIL, 1982). Recentemente resistência a pentamidina foi descrita na literatura por BRAY et al, 2003, assim como a dificuldade em tratar pacientes imuno deprimidos, que geralmente não respondem ao tratamento convencional e necessitam de altas doses e maior período de tratamento (ESCOBAR *et al.*, 2001).

Seus efeitos colaterais são dor no local da injeção, gosto metálico na boca, cefaléia, congestão, dispnéia e os menos freqüentes são febre, transpiração e fadiga, além disso, os pacientes devem ser monitorados quanto a hipotensão arterial e hipoglicemia (DAVID; CRAFT, 2009).

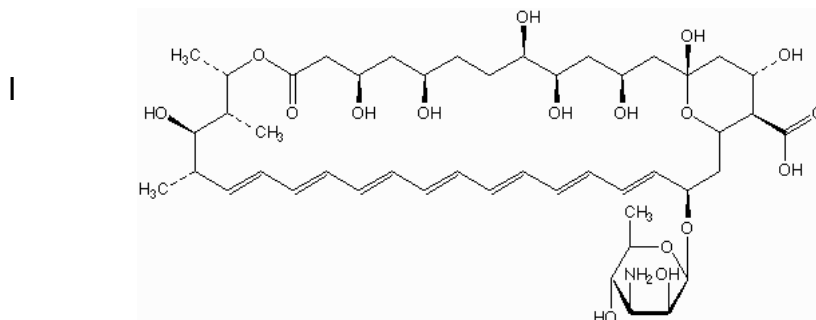


**Figura 6:** Fórmula química da pentamidina

#### 4.4.1.3. Anfotericina B

A anfotericina B tem tempo de meia-vida curto e é usada em pacientes clinicamente resistentes à pentamidina. A anfotericina B interage especificamente com o ergosterol, esteróide da membrana da *leishmania*, causando aumento de permeabilidade e morte do parasita (BERMAN, 1997). Também reconhece o colesterol da célula humana, o que é prejudicial para o paciente. Além disso, o custo de produção é alto o que inviabiliza o tratamento à base deste medicamento em países pobres (SANTOS *et al.*, 2008). Deste modo é uma opção bastante utilizada em países ricos. Outros efeitos adversos conhecidos são dispnéia, rubor, febre relacionadas à perfusão e calafrios, nefrotoxicidade e hipocalcemia, que exigem o monitoramento hospitalar.

Alternativas terapêuticas utilizadas são as formulações lipídicas da anfotericina B (FLAB) que tem sido utilizada esporadicamente no tratamento das formas cutâneas e mucosas, seja em pacientes imunocompetentes ou com alguma forma de imunossupressão, incluindo indivíduos infectados pelo HIV. As FLAB têm apresentado resultados promissores, embora mais estudos sejam necessários, especialmente para se determinar a dose adequada para cada forma de leishmaniose. O emprego das FLAB no tratamento da leishmaniose constitui-se em alternativa terapêutica nos casos de falha ou contra-indicações dos antimoniais, e medicações de segunda escolha (AMATO *et al.*, 2000 e 2004, AMATO, 2006; BROWN *et al.*, 2005) . Na bacia do Mediterrâneo a anfotericina B lipossomal é o tratamento de escolha para os pacientes imunocompetentes, assim como para tratamento da co-infecção HIV / LV (CHAKRAVARTY e SUNDAR, 2010).

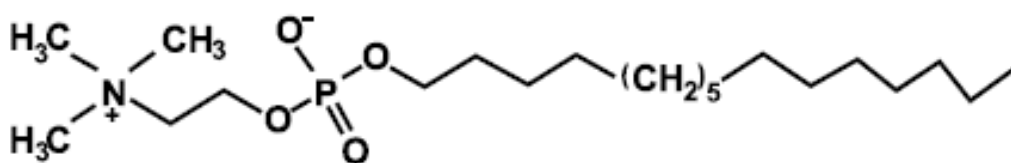


**Figura 7:** Fórmula química da anfotercina B

#### 4.4.1.4. Miltefosina

A primeira droga de uso oral no tratamento da LV é a miltefosina, a qual apresentou bons resultados em LV causada por *L. donovani*, porém para a *L. (V.) braziliensis*, não houve eficiência adequada (SOTO *et al.*, 2004). A miltefosina é uma hexadecilfosfocolina que provoca alto nível de resistência dos pacientes ao tratamento devido ao seu pequeno índice terapêutico e longo tempo de meia vida estimado em 7 dias (GRIENSVEN *et al.*, 2010). Quando utilizada no tratamento de leishmaniose cutânea Americana apresenta taxa de cura semelhante ao antimonial pentavalente, sendo assim considerada uma medicação de segunda opção para pacientes resistentes ao antimonial. Os mecanismos de ação da miltefosina ainda não são bem conhecidos, mas sabe-se que esta droga é capaz de bloquear a síntese e alterar a composição da membrana da *leishmania*. Poucos efeitos colaterais são descritos como náuseas, vômitos, diarreia e elevação do nível de creatina (DAVID; CRAFT, 2009). É bastante utilizada em países pobres e mais estudos se fazem necessários a respeito dessa medicação.

Como já mencionado, o tratamento de primeira escolha da leishmaniose é a N-metil-glucamina que tem alta toxicidade, exige administração parenteral e nem sempre cura.



**Figura 8:** Fórmula química da miltefosina

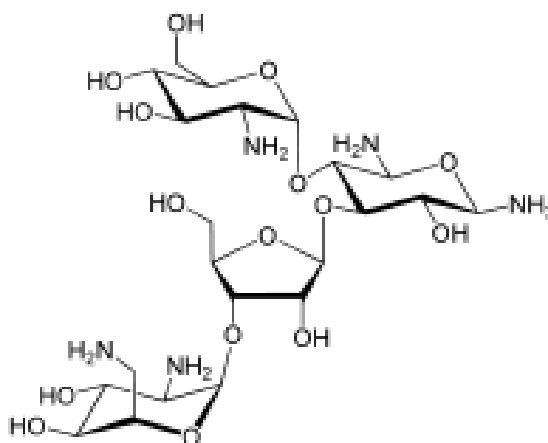
#### 4.4.1.5. Azitromicina

A azitromicina mostrou ação *in vitro* e resultado contraditório na doença humana. Da COSTA FILHO e colaboradores em 2009, demonstraram que a associação N-metil glucamina e azitromicina não apresentou mais eficácia do que o N-metil glucamina em uso isolado. A azitromicina tem eficácia limitada e uso

bastante restrito, porém é utilizada em pacientes nos quais as outras alternativas não tiveram sucesso e também em pacientes com contra-indicações para todas as outras drogas, como crianças pequenas, mulheres grávidas e pacientes com doenças graves (BLUM; HATZ, 2009). Entretanto a terapia combinada para o tratamento da leishmaniose visceral tem sido cada vez mais defendida como uma forma de aumentar a eficácia e a tolerância do paciente ao tratamento, reduzir a duração do tratamento e o custo e limitar o surgimento de resistência à droga (GRIENSVEN *et al.*, 2010).

#### 4.4.1.6. Paromomicina

Paromomicina é um aminoglicosídeo, um antibiótico com baixa toxicidade nas células de mamíferos, que inibe a síntese de proteína e altera a fluidez da membrana e sua permeabilidade, de administração parenteral e intralesional, é ineficiente atuando sozinha precisa então ser combinada; Estudos revelam que a atividade mitocondrial de *L. donovani* diminuiu na presença desta droga, e seus efeitos colaterais incluem, aumento de transaminases hepáticas, ototoxicidade e dor no local da injeção (MALTEZOU, 2009). Na verdade a paromomicina inibe a síntese protéica da *Leishmania mexicana* na fase promastigota diminuindo significativamente a taxa de proliferação do parasita em contrapartida a paromomicina não afeta as células do hospedeiro mamífero (FERNANDEZ; MALCHIODI e ALGRANADE, 2010).



**Figura 9:** Fórmula química da paromomicina

#### 4.4.1.7. Nicotinamida

Alguns estudos comprovam que a Nicotinamida (NAM), também conhecida como vitamina B3, que já é utilizada em terapêutica humana, exerce atividade leishmanicida, e agindo sinergicamente com o antimonial trivalente melhora significativamente sua atividade leishmanicida, bem como aumenta a toxicidade do antimônio pentavalente contra as formas intracelulares de *L. infantum*, *L. amazonensis* e *L. brasiliensis* (GAZANION *et al.*, 2010).

#### 4.4.1.8. Nelfinavir e lopinavir

Pacientes co-infectados por *leishmania* e HIV são considerados reservatórios naturais para o protozoário, necessitando de tratamentos especiais. Porém estudos recentes mostraram novidades promissoras, verificando que os inibidores de aspartil peptidase do HIV também afetavam a proliferação do *leishmania* principalmente o nelfinavir e lopinavir. Após o tratamento com esses compostos profundas mudanças na ultraestrutura da *leishmania* foram detectadas por microscopia eletrônica de transmissão, incluindo a diminuição do volume citoplasmático e aumento do número de inclusões de lipídios. Algumas células apresentaram o núcleo intimamente envolvido pelo retículo endoplasmático semelhante a um processo autofágico, bem como a condensação da cromatina, que sugere apoptose e morte (EZRA; OCHOA; CRAFT, 2010).

#### 4.4.1.9. Vacinas

Tem se testado o uso de vacinas que favoreçam a resposta imune do hospedeiro à *Leishmania*, nestas vacinas estão sendo usadas proteínas da saliva do mosquito, antígenos recombinantes e antígenos com atividade atenuada. A imunoterapia aqui caracterizada pode ser usada como alternativa à quimioterapia. Uma vacina experimental utilizando promastigotas mortos de *L. brasiliensis* com o bacilo Calmette-Guerin induziu respostas Th1 e provocou a cura completa das lesões (AMEEN, 2009)

#### 4.4.1.10. Considerações gerais sobre tratamentos convencionais

Como visto, as drogas utilizadas no tratamento atual da leishmaniose apresentam diversos problemas incluindo a alta toxicidade e diversos efeitos colaterais levando os pacientes a abandonarem o tratamento, o que consequentemente gera linhagens de *leishmanias* resistentes. Além disso, o alto custo dos compostos torna o tratamento muitas vezes inviável e longe de ser o ideal (YARDLEY *et al.*, 2002; SINGH e SIVAKUMAR, 2004).

Estratégias como uma melhor compreensão do mecanismo de ação das drogas, a distribuição gratuita de medicamentos, terapias combinadas e monitoramento da resistência podem auxiliar no combate ao aumento da resistência às drogas leishmanicidas uma vez que essa emergência da resistência às drogas é um dos fatores que complica ainda mais o controle da leishmaniose (CHAKRAVARTY e SUNDAR, 2010). Progressos recentes na genômica destes parasitas (*leishmania*), juntamente com a identificação de alguns alvos biomoleculares são a grande promessa para descoberta de novas drogas antiparasitárias (NAVARRO *et al.*, 2010). Outra possibilidade de tratamento é o uso de imunomoduladores em combinação com quimioterapia convencional. A sinergia entre a quimioterapia e a função imune do hospedeiro foi sugerida por observações de que pacientes imuno comprometidos com LV não respondem às drogas antimonialis. O reconhecimento de que muitas drogas anti-leishmania podem operar em sinergia com os mecanismos imunes do hospedeiro tem despertado interesse no desenvolvimento da imunoquimioterapia. Esse tipo de tratamento combinado pode melhorar a resposta imunitária do hospedeiro podendo ter várias vantagens, além de melhorar os tratamentos terapêuticos atuais (KAYE; DALTON, 2010).

As drogas atuais mais utilizadas como antimonial pentavalente, amphotericina B, miltefosine e paramomicina, apresentam limitações como dosagem alta, a necessidade da administração de múltiplas injeções, ausência de respostas e retorno dos sintomas, ou seja, o parasita não é eliminado. Poucas drogas têm surgido nos últimos 50 anos, e a resistência às drogas tem aumentado muito, de modo que a taxa de cura não ultrapassa os 80% dos casos na maioria dos estudos (TUON *et al.*, 2008). Embora a seleção de *leishmanias* resistentes venha sendo

estudada há muito tempo, apenas nos últimos 20 anos que a resistência adquirida se tornou uma ameaça clínica. O primeiro indício de resistência à droga veio do norte de Bihar, no início dos anos 80, onde cerca de 30% dos pacientes não responderam ao esquema normal de tratamento com uma pequena dose diária (10 mg/kg, máximo de 600 mg) por um período de curta duração (6-10 dias). Portanto, há necessidade urgente de um tratamento não tóxico e com efeito protetor de longa duração para evitar o ressurgimento da doença ou até mesmo a re infecção (BANERJEE; DE; ALI, 2008). Sendo assim a idéia de se buscar formas alternativas de tratamento deve ser levada em consideração.

#### **4.4.2. Tratamentos alternativos**

Na tentativa de evitar os problemas gerados pela administração dos medicamentos atuais, algumas formas alternativas de tratamento têm sido utilizadas no caso da leishmaniose. Porém existem algumas dificuldades a serem ultrapassadas quando se trata da apresentação de compostos naturais como forma de tratamento. Entre eles estão a disponibilidade de novos compostos que é baixa principalmente devido a falta de recursos uma vez que investimentos nessa área são relativamente escassos. Entretanto novas drogas e/ou estratégias terapêuticas alternativas tem sido utilizadas. A terapia combinada de medicamentos leishmanicidas atualmente é considerada como uma das abordagens mais racionais para diminuir as falhas no tratamento e eliminar a resistência às drogas. Tratamentos como associações de drogas com citocinas que estimulam o sistema imunitário e tratamentos naturais são alternativas ao tratamento da leishmaniose. O propósito dessas terapias é aumentar a resposta imunológica através da ativação dos macrófagos, aumentando a capacidade de eliminar a infecção (WENIGER *et al.*, 2001; KAYSER *et al.*, 2003; TIUMAN *et al.*, 2005).



#### **4.4.2.1. *Annona coreacea***

Um grupo de cientistas da Universidade Estadual de Maringá juntamente com um grupo da Universidade de São Paulo verificou que o extrato obtido a partir da *Annona coriacea* apresentou um excelente resultado contra a atividade das formas promastigotas de *Leishmania amazonensis*. Estes resultados podem auxiliar na procura de medicamentos alternativos a serem utilizados na farmacoterapia, e contribuirá para estabelecer o uso seguro e eficaz de fitoterápicos no tratamento de doenças infecciosas (TOLEDO *et al.*, 2010).

#### **4.4.2.2. *Chenopodium ambrosioides***

A erva aromática *Chenopodium ambrosioides* foi administrada em uma dose de 150 mg/Kg em camundongos infectados por *Leishmania amazonensis* e apresentou melhores resultados que em camundongos tratados com anfotericina B e pentamidina (MONZOTE *et al.*, 2010).

#### **4.4.2.3. *Piper betle***

Derivados de pimenta provenientes de duas espécies de *Piper betle*: Bangla Mahoba e Kapoori Vellaikodi foram testados em laboratório com resultados promissores. A Bangla Mahoba foi capaz de inibir seletivamente ambas as fases do parasita *leishmania*, acelerando eventos apoptóticos pela geração de espécies reativas ao oxigênio atuando na mitocôndria sem, porém toxicidade para o macrófago. Demonstrou-se que o efeito apoptótico que este óleo causa é atribuído à presença de eugenol (composto de álcool) nesse composto (MISRA, 2009). Outro estudo mostrou a eficácia de óleo de pimenta de *Piper auritum* de baixa citotoxicidade e alta atividade leishmanicida devido a presença de safrol, compondo 87% do óleo. O óleo foi ativo contra promastigotas de *Leishmania major*, *Leishmania mexicana*, *Leishmania brasiliensis* e *Leishmania donovani* e com um índice de seletividade favorável em relação aos macrófagos peritoneais de camundongos,

Além disso, o óleo inibiu o crescimento de formas amastigotas de *Leishmania donovani* (MONZOTE *et al.*, 2010).

#### **4.4.2.3. *Laurencia dendroidea***

Estudos realizados por DOS SANTOS *et al.* em 2010, mostraram que o elatol, composto isolado da alga vermelha *Laurencia dendroidea*, possui efeito leishmanicida. O elatol teve efeito citotóxico em parasitas de *L. amazonensis* em sua forma promastigota e amastigota, porém não apresentou o mesmo efeito sobre macrófagos. Esse mesmo composto demonstrou ter efeitos na defesa contra infecções por microorganismos.

#### **4.4.2.4. *Perovskia abrotanoides***

Na medicina popular iraniana, a *Perovskia abrotanoides* é usada no tratamento de leishmaniose por apresentar atividade antimicrobiana muito potente, posto que estes pacientes possam desenvolver infecções secundárias por microorganismos oportunistas, a *P. abrotanoides* se mostra muito eficiente contra *Candida albicans* e bactérias Gram-positivas (MAHBOUBI; KAZEMPOUR, 2009).

#### **4.4.2.5. *Copaifera reticulata***

O óleo de copaíba também foi testado no Brasil, e apresentou alta eficiência antiproliferativa para as formas promastigotas e amastigotas de leishmania, este óleo é retirado da *Copaifera reticulata* (coletada no estado do Pará), além disso, este óleo apresentou baixa toxicidade em relação aos macrófagos infectados (SANTOS *et al.*, 2009).

#### 4.4.2.6. Crioterapia

Para o tratamento de leishmaniose cutânea em crianças a crioterapia é uma alternativa recomendada, devido sua simplicidade, baixo custo, alta tolerabilidade e baixa taxa de graves complicações pós-tratamento, como o observado por Layegh em sua pesquisa com crianças no Brasil. Esta consiste da utilização de nitrogênio líquido ( $-195\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) sobre a lesão, por alguns segundos para que o congelamento não tome o tecido saudável. O processo é dividido em sessões por seis meses, e os resultados apresentaram uma taxa de 22% de cura em relação à aplicação de glucantine intralesional (LAYEGH, 2009).

#### 4.4.2.7. Terapia fotodinâmica

Outra forma de tratamento que vem sendo testada é a terapia fotodinâmica, a qual tem apresentado bons resultados, pelo curto prazo que o paciente fica submetido ao tratamento, e pode ser encarada como uma alternativa ao uso de antimonial pentavalente administrado de forma intralesional ou intramuscular como avaliou Reithinger e colaboradores em seus experimentos. A terapia fotodinâmica consiste na aplicação de feixes de luz sobre as lesões. Estes feixes provocam calor que penetra uniformemente na derme superior, expondo os amastigotas à elevada temperatura ( $50^{\circ}\text{C}$ ) sem ferir o tecido saudável (REITHINGER, 2005). Alguns testes foram realizados com terapia fotodinâmica no Irã para tratamento de leishmaniose cutânea. Ácido delta-aminolevulínico em um preparado de água e óleo foi aplicado às lesões e foram realizadas irradiações uma vez por semana durante um mês. Após quatro meses da última sessão não havia cicatrizes, não houve sinais clínicos nem recorrência da doença (GHAFARIFAR, 2006). Outro estudo sobre terapia fotodinâmica realizado no Hospital San Juan Bautista em Chaparral, Colômbia, apresenta resultados nos quais a termoterapia é tão eficiente quanto o antimonial pentavalente quando a doença é provocada pelas espécies *L. mexicana* e *L. brasilienses*, entretanto sem os efeitos colaterais provocados por essa droga (VEGA *et al.*, 2009).

#### 4.4.2.8. Complexo homeopático

Tratamentos homeopáticos visam auxiliar a cura pelo próprio organismo, tratando a doença ao invés de melhorar os sintomas. Estudos com tinturas altamente diluídas mostraram que moléculas como o óxido nítrico (NO), que é capaz de atuar diretamente sobre os parasitas, provocando efeitos tóxicos e inibitórios sobre diversos processos celulares, como crescimento e multiplicação, são estimuladas a serem produzidas após o tratamento durante a infecção experimental com *L. amazonensis*, revertendo o efeito inibitório dos parasitas tanto *in vitro* quanto *in vivo* (LOPES et al, 2006 e PEREIRA et al., 2004).

#### 4.4.3. A Cura

A cura da leishmaniose é determinada por alguns critérios. Na forma cutânea o critério de cura é definido pelo aspecto clínico das lesões, re-epitelização das lesões ulceradas ou não ulceradas, regressão total da infiltração e eritema até três meses após a conclusão do esquema terapêutico. Na forma mucosa, o controle é definido pela regressão de todos os sinais clínicos ao exame otorrinolaringológico, até seis meses após a conclusão do tratamento. Se não houver cicatrização, no período de tempo estipulado para qualquer das duas formas de leishmanioses descritas acima, novo esquema terapêutico com antimonial pentavalente deve ser instituído. No caso de nova falha terapêutica, uma droga de segunda escolha deve ser utilizada (AMATO, 2006).

O controle da infecção e progressão da doença parecem estar relacionadas com a geração de células T-helper Th1 e respostas Th2. O conjunto de células T tem importante papel na suscetibilidade e resistência em humanos infectados pelas espécies de leishmania, a essa resposta imunológica pode estar associada a cura (NYLÉN; GAUTAM, 2010). Pesquisadores da Índia publicaram recentemente que a proteína cistatina pode curar completamente a leishmaniose visceral, provocando a diferenciação de Th2 em Th1 (KAR; UKIL; DAS, 2010). A literatura também relata alguns casos de cura espontânea ou auto-cura, como não sendo tão raros assim.

Um estudo que acompanhava 42 pacientes infectados constatou que 12% apresentaram cura espontânea (SCARISBRICK, 2006).

## 5. CONCLUSÃO

A partir do levantamento de artigos científicos realizado para esta pesquisa sobre leishmaniose foi observado uma enorme ocorrência da doença em muitas partes do mundo, o que a leva ser considerada um sério caso de saúde pública. Além disso, esta pesquisa retratou o modo de infecção e os mecanismos de sobrevivência do parasita em seus hospedeiros, bem como os erros em diagnósticos e os terríveis sintomas da doença.

Foi possível observar que os tratamentos atuais para essa doença não garantem que o paciente alcançará a cura. Porém, algumas pesquisas mostraram excelentes resultados com tratamentos alternativos, apresentando melhora nos sintomas e diminuição da toxicidade e efeitos colaterais. Tendo-se em vista os efeitos perniciosos causados aos pacientes pelos tratamentos convencionais, seja por prejudicar a saúde ou por inviabilidade financeira, faz-se necessária a pesquisa na busca de outros tratamentos, que sejam mais acessíveis economicamente, que provoquem menos obstáculos ao tratamento, menos sofrimento aos pacientes e que tenham uma ação mais eficiente contra a doença, sem afetar outras áreas do organismo.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

AMATO, V.S. Tratamento de Leishmaniose Tegumentar Americana. **Boletim epidemiológico paulista**, n.26, Fev. p.2-7, 2006.

AMATO, V. S.; RABELLO, A.; ROTONDO-SILVA, A.; KONO, A.; MALDONADO, T. P.; ALVES, I. C.; FLOETER-WINTER, L. M.; NETO, V. A. and SHIKANAIA-YASUDA, M.A. Successful treatment of cutaneous *leishmaniasis* with lipid formulations of amphotericin B in two immunocompromised patients. **Acta Tropica**, v.92, n.2, p.127-132, 2004.

AMEEN, M. Cutaneous Leishmaniasis: advances in disease pathogenesis, diagnostics and therapeutic. **Clinical and Experimental Dermatology**, v.35, p.699-705, 2010.

ANTOINE, J.C.; PRINA, E.; LANG, T. and COURRET, N. The biogenesis and properties of the parasitophorous vacuoles that harbour *Leishmania* in murine macrophages. **Trends Microbio**, v.6, n.10, p.392-401, 1998.

AWASTHI, A.; MATHUR, R. K.; and SAHA, B. Immune response to *Leishmania* infection. **Indian Journal of Medical Research**, v. 119, n.6, p.238-258, 2004.

BACELLAR, O.; A. D'OLIVEIRA JR, JERÔNIMO, S; CARVALHO, E.M. IL-10 and IL-12 are the main regulatory cytokines in visceral leishmaniasis. **Cytokine**, vol.12, n.8, p. 1228-1231, 2000.

BERMAN, J.D.; WADELL, D. and HANSON, B.D. Bioquimical mechanisms of the antileishmanial activity of sodium stibogluconate. **Antimicrob agents Chemother**, v.27, n.6, p. 916-920, 1985.

BERMAN, J.D. Chemotherapy for leishmaniasis: biochemical mechanisms, clinical efficacy, and future strategies. **Rev infect Dis**, v. 10, n.3, p. 560-586, 1988.

BERMAN, J.D. Human leishmaniasis: clinical, diagnostic and chemotherapeutic developments in the last 10 years. **Clin. Infect. Dis**, v.24, n.4, p.684-703, 1997.

BLUM, J.A. and HATZ,C.F. Treatment of Cutaneous Leishmaniasis in Travelers 2009. **Journal of travel Medicine**, v.16, n.2, p.123-131, 2009.

BROWN, M.; NOURSADEGHI, M.; BOYLE, J. and DAVIDSON, R.N. Successful liposomal amphotericin B treatment of *leishmania braziliensis* cutaneous leishmaniasis. **Br. J. Dermal**, v.153, n.1, p.203-205, 2005.

CARVALHO, P.B.; ARRIBAS, M.A.G.; FERRARI, E.I. Leishmaniasis. What do we know about its chemotherapy? **Bras jor pharm sci**, v.36; p.69-96, 2000.

CHAKRAVARTY J.; SUNDAR S. Drug Resistance in Leishmaniasis. **Journal of Global Infectious Diseases** v. 2, n.2, p.167–176, 2010.

CHAUSSABEL, D.; SEMNANI, T. R.; MACDOWELL, M. A.; SACKS, D.; SHER, A.; and NUTMAN, T. B. Unique gene expression profiles of human macrophages and dendritic cells to phylogenetically distinct parasites. **Blood**, v.102, n.2, p.672-681, 2003.

CROFT, S.L. and BRAZIL, R.P. Effect of pentamidine isethionate on the ultrastructure and morphology of *Leishmania mexicana amazonensis* in vitro. **Ann Trop**, v.76, n.1, p.37-43, 1982.

CROFT, S.L.; SEIFERT, K. and YARDLEY, V. Current scenario of drug development for leishmaniasis. **Indian journal med res**, v.123, n.3, p. 399-410, 2006.

CUMMINGS, H.E.; TULADHAR, R.; and SATOSKAR, A.R. Cytokines and Their STATs in Cutaneous and Visceral Leishmaniasis. **Journal of biom. and biotech**, 2010:294389. Epub 2010 Mar 15.

DAVID, C. V. and CRAFT, N. Cutaneous and mucocutaneous *leishmaniasis*. **Dermatology Therapy**, v.22, n.6, p.491-502, 2009.

DUJARDIN, J.C.; GONZALEZ-PAKANOWSKA, D.; CROFT, S.L.; OLESEN, O.F. and SPATH, G.F. Collaborative actions in anti-trypanosomatid chemotherapy with partners from disease endemic areas. **Trends parasitol**, p. 395-403, 2010.

DONOVAN, M. J.; MESSMORE, A. S.; SCRAFFORD, D. A.; SACKS, D. L.; KAMIHAVI, S. and MACDOWELL, M. A. Uninfected mosquito bites confer protection against infection with malaria parasites. **Infect Immun**, v.75, n.5, p.2523-2530, 2007.

DOS SANTOS, A.O.; VEIGA-SANTOS, P.; UEDA-NAKAMURA, T.; DIAS FILHO, B.P.; SUDATTI, D.B.; BIANCO, É.M.; PEREIRA, R.C.; NAKAMURA, C.V. Effect of Elatol, Isolated from Red Seaweed *Laurencia dendroidea*, on *Leishmania amazonensis*. **Mar. Drug.**, v.8, p.2733-2743, 2010.

EZRA, N.; OCHOA, M.T.; CRAFT, N. Human immunodeficiency virus and leishmaniasis. **J. Glob. Infect. Dis.**, v.2, n.3, p.248-257, 2010.

FERNÁNDEZ, M.M.; MALCHIODI, E.L. and ALGRANATI, I.D. Differential effects of paromomycin on ribosomes of *Leishmania mexicana* and mammalian cells. **Antimicrob. Agents Chemoter**, v.55(1), p.86-93. 2011.

FORTÉA, J.O.; PRINA, E.; LLAVE, E.de la; LECOEUR, H.; LANG, T.; MILON, G. Unveiling pathways used by *Leishmania amazonensis* amastigotes to subvert macrophage function. **Immunological reviews**, v.219, p.66-74, 2007.

GAZANION, E.; VERGNES, B.; SEVENO, M.; GARCIA, D.; OURY, B.; AIT-LOUDHIA,



K.; OUAISSI, A.; SERENO, D. In vitro activity of nicotinamide/antileishmanial drug combinations. **Parasitol int.**, p. 19-24, 2010.

GONTIJO, C.M.F.; MELO, M.N. Leishmaniose visceral no Brasil. no Brasil: Quadro Atual, Desafios e Perspectivas. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v. 7, n. 3, p. 338-349, 2004.

GRIENSVEN, J.V.; BALASEGARAM, M.; MEHEUS, F.; ALVAR, J.; LYNEN, L.; BOELAERT, M. Combination therapy for visceral leishmaniasis. **Lancet infect dis**, v.10, p.184-194, 2010.

HALL, B.F.; JOINER, K. A. Strategies of obligate intracellular parasites for evading host defences. **Immunology Today**, v.12, n.2, p.A22-A27, 1991.

KAR, S; UKIL, A; DAS, PK. Cystatin cures visceral leishmaniasis by NF-Kb-mediated proinflammatory response through co-ordination of TLR/MyD88 signaling with p105-Tp12-ERK pathway. **European journal of immunology**, p.116-127, 2010.

KAYE, P.M.; DALTON, J.E. Immunomodulators: use in combined therapy against leishmaniasis. **Expert Rev. Anti Infect. Ther.** v.8, n.7, p. 739–742, 2010.

KAYSER, O.; KIDERLEN, A.F. and CROFT S.L. Natural products as antiparasitic. **Prasitol res**, v.90, n.2, p.s55-s62, 2006.

LANG, R. Tuning of macrophage responses by Stat3-inducing cytokines: molecular mechanisms and consequences in infection. **Immunobiology**, v.210 n.2-4, p.63-76, 2005.

LANG, T.; and COURRET, N. The biogenesis and properties of the parasitophorus vacuoles that harbour *Leishmania* in murine macrophages. **Trends microbiol**, v.6, n.10, p.392-401, 1998.

LAYEGH, P. et al. Efficacy of Cryotherapy versus Intralesional Meglumine Antimoniate (Glucantime) for treatment of Cutaneous Leishmaniasis in children. **Ameri journ trop med**, v.80, n.2, p.172-175, 2009.

LIESE, J.; SCHLEICHER, U.; BOGDAN, C. The innate immune response against *Leishmania* parasites. **Imunobiology**, v.213, p377-387, 2008.

LIPPUNER, C.; PAAPE, D.; PAPEROU, A.; BRAND, J.; RICHARDSON, M.; SMITH, A.J.; HOFFMAN, K.; BRINKMANN, V.; BLACKBURN, C. and AEBICHER, T. Real time imaging of *Leishmania mexicana*-infected early phagosomes: a study using primary macrophages generated from green fluorescent protein-Rab5 transgenic mice. **The FASEB journal**, v.23, p.483-491, 2009.

LOPES, L.; GODOY, L.M.F.; DE OLIVEIRA, C.C.; GABARDO, J.; SCHADECK, R.J.G.; BUCHI, D.F. Phagocytosis, endosomal/lysosomal system and other cellular aspects of macrophage activation by *Canova* medication. **Micron**, vol. 37, p. 277-287, 2006.

MACDOWELL, M. A.; MAROVICH, M.; LIRA, R.; BRAUN, M. and SACKS, D. *Leishmania* priming of human dendritic cells for CD40 ligand-induced interleukin-12p70 secretion is strain and species dependent. **Infect Immun**, v.70, n.8, p.3994-4001, 2002.

MACDOWELL, M. A. and SACKS, D. L. Inhibition of host cell signal transduction by *Leishmania*: observations relevant to the selective impairment of IL-12 responses. **Current Opinion in Microbiology**, v.2, n.4, p.438-443, 1999.

MAHBOUBI, M. and KAZEMPOUR, N. The Antimicrobial Activity of Essential Oil from *Perovskia abrotanoides* Karel and its Main Components. **Indian Journ. Pharm. Sci**, v.71, n.3, p.343-347, 2009.

MALTEZOU, H.C. Drug resistance in Visceral Leishmaniasis. **Journal of Biom. And Biotech**. 2010:617521. Epub 2009 Nov 1, 2010.

MARÍN, C et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for superoxide dismutase-excreted antigen in diagnosis of sylvatic and Andean cutaneous leishmaniasis of Peru. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v.80, n.1, p. 55-60, 2009.

MARKLE, W. H. and MAKHOUL, K. Cutaneous *leishmaniasis*: recognition and treatment. **American Family Physician**, v.69, n.6, p.1455-1460, 2004.

MISHRA, J.; CARPENTER, S.; SINHG, S. Low serum zinc levels in an endemic area of visceral leishmaniasis in Bihar, India. **Indian J. Med. Res**, v.131, p. 793-798, 2010.

MISHRA, B.B.; KALE, R.R.; SINGH, R.K.; TIWARI, V.K.. Alkaloids: Future prospective to combat leishmaniasis. **Elsevier B.V.**, p.81-90, 2008

MONZOTE, L.; GARCIA, M.; MONTALVO, A.M.; SCULL, R.; MIRANDA, M. Chemistry, cytotoxicity and antileishmanial activity of the essential oil from *Piper auritum*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.105, n.2, p.168-173, 2010.

MOREHEAD, J.; COPPENS, I.; and ANDREWS, N. W. Opsonization modulates Rac-1 activation during cell entry by *Leishmania amazonensis*. **Infect Immun**, v.70, n.8, p.4571-4580, 2002.

NADERER, T. and MCCONVILLE, M.J. The leishmania-macrophage interaction: a metabolic perspective. **Cellular Microbiology**, v.10, n.2, p.301-308, 2008.

NEUBER, H. Leishmaniasis. **Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft**, v.9, p.754-765, 2008.

NYLÉN, S.; GAUTAM, S. Immunological perspectives of leishmaniasis. **Journal of global infectious diseases**, v.2, n.2, p. 135-146, 2010.

OLIVER, M.; GREGORY, D. J. and FORGET, G. Subversion mechanisms by which *Leishmania* parasites can escape the host immune response: a signaling point of view. **Clinical Microbiology Reviews**, v.18, n.2, p.293-305, 2005.

OLIARRO, P. L. and BRYCESON A. D. . Practical progress and new drugs for changing patterns of *leishmaniasis*. **Parasitology Today**, v.9, n.2, p.323-328, 1993.

PEREIRA, W.K.V. ; LONARDONI, M.V.C. ; GRESPAN, R. ; CAPARROZ-ASSEF S.M.; CUMAN, R.K.N.; BERSANI-AMADO, C.A. Immunomodulatory effect of Canova medication on experimental *Leishmania amazonensis* infection. **Journal of Infection**, v. 51, p.157–164, 2005.

PERUHYPY-MAGALHÃES, M.; MARTINS FILHO, O. A.; PRATA, A.; SILVA, L. de A.; RABELLO, A.; CARVALHO A.T.; FIGUEIREDO, R. M.; GUIMARÃES-CARVALHO, S. F.; FERRARI, T. C. and CORREA-OLIVEIRA, R. Immune response in human visceral *leishmaniasis*: analysis of the correlation between innate immunity cytokine profile and disease outcome. **Scandinavian Journal of Immunology**, v.62 n.5, p.487-495, 2005.

RAHT, S.; TRIVELLIN, A.; IMBRUNITO, T.R.; TOMAZELA, D.D.; JESUS, M.N.; MARZAL, P.; JUNIOR TEMPONE, H.F.A. Antimoniais empregados no tratamento de leishmaniose: Estado de arte. **QUIM NOVA**, v.26, p.550-557, 2003.

REITHINGER, R. et al. Efficacy of thermotherapy to treat Cutaneous Leishmaniasis caused by *Leishmania tropica* in Kabul, Afeganistan: A randomized, controlled trial. **Clinical infectious disease**, n.40, p.1148-1155, 2005

ROMERO, G.A.S.; BOELAERT, M. Control of Visceral Leishmaniasis in Latin America—A Systematic Review. **Neg. trop. Diseases**, v.4, n.1, 2010.

SACKS, D. e NOBEN-TRAUTH, N. The immunology of susceptibility and resistance to *Leishmania major* in mice. **Nature reviews immunology**, v.2, p.845-858, 2002.

SANTOS, A.O. dos et al. Effect of Etanol, Isolated from Red Seaweed *Laurencia dendroidea*, on *Leishmania amazonensis*. **Mar.Drugs**, v.8, p.2733-2741, 2010.

SANTOS, D. O.; COUTINHO, C. E.; MADEIRA, M. F.; BOTTNO, C. G.; VIEIRA, R. T.; NASCIMENTO, S. B.; BERNARDINO, A.; BOURGUIGNON, S. C.; CORTE-REAL, S. C; PINHO, R. T.; RODRIGUES, C. R. and CASTRO, H. C. *Leishmaniasis* treatment--a challenge that remains: a review. **Parasitology Research**, v.103, n.1, p.1-10, 2008.

SCARISBRICK, J.J.; CHIODINI, P.L.; WATSON, J.; MOODY, A.; ARMSTRONG, M.; LOCKWOOD, D.; BRYCESON, A.; VEGA-LOPES, F. Clinical features and diagnosis of 42 travellers with cutaneous leishmaniasis. **Travel. Med. Infec dis.**, v.4, n.1, p.14-21, 2005.

SHARMA, U.; SINGH, S. Insect vectors of *Leishmania*: distribution, physiology and their controls. **Journal of Vector Borne Diseases**, v. 45, p.255-272, 2008.

SILVESTRE, R.; SANTARÉM, N; TEIXEIRA, L; CUNHA, J; SCHALLIG, H; CORDEIRO DA SILVA, A. Evaluation of *Leishmania* species reactivity in human serologic diagnosis of leishmaniasis. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v.81, n.2, p.202-228, 2009.

SINGH, S. and SIVAKUMAR, R. Challenges and new discoveries in the treatment of *leishmaniasis*. **Journal of Infection Chemotherapy**, v.10, n.2, p.307-315, 2004.

SOTO, J. B.; ARANA, A.; TOLEDO, J.; RIZZO, N.; VEGA, J. C.; DIAZ, A.; LUZ, M. GUTIERREZ, P.; ARBOLEDA, M.; BERMAN, J. D.; JUNGE, K.; ENGEL, J. and SINDERMAN, H. Miltefosine for new world cutaneous *leishmaniasis*. **Clinical Infectious Diseases**, v.38, n.9, p.1266-1272, 2004.

SRIVASTAVA, P; DAYAMA, A; MEHROTRA, S; SUNDAR, S. Diagnosis os visceral leishmaniasis. **Transactions of the Royal Society of tropical medicine and hygiene**. V.105, n.1, p.1-6, 2010.

THOMAZ-SOCCOL, V.; LANOTTE, G.; ROIUX, J. A.; PRATLONG, F.; MARTINI-DUMAS, A.; SERRES, E. Phylogenetic taxonomy of New World *Leishmania*. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée**, v.68, n.2, p.104-106, 1993.

TIUMAN, T.S.; UEDA-NAKAMURA, T.; GARCIA CORTEZ, D.A.; FILHO, B.P.; MORGADO-DIAZ, J.A.; SOUZA, W. de and NAKAMURA, C.V. Antileishmanial activity of parthenolide, sesquiterpene lactone isolated from *Tenacetum parthenium*. **Antimicro agents chemoter**, v.49, n.1, p.176-182, 2005.

VARIN, A. and GORDON, S. Alternative activation of macrophages: immune function and cellular biology. **Immunobiology**, v.214, n.7, p.630-641, 2009.

VEGA, J.C. et al. Efficacy to thermotherapy to treat Cutaneous Leishmaniasis in Colômbia: a comparative observational study in an operational setting. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.103, p.703-706, 2009.

ZAGHI, D.; PANOSIAN, C.; GUTIERREZ, M.A.; GREGSON, A.; TAYLOR, E. and OCHOA, M.T. New World cutaneous leishmaniasis: Current challenges in diagnosis and parenteral treatment. **Journal American Academy of Dermatology**, p.587-592, 2009.

WANIGER, B.; ROBLEDO, S.; ARAGON, G.J.; MUÑOS, V.; CALLAPA, J.; LOBSTEIN, A.; and ANTON, R. Antiprotozoal activities of Colombian plants. **Journal Ethnopharmacol**, n.78, v.2-3, p.193-200, 2001.

YARDLEY, V.; KHAN, A.A.; MARTIN, M.B.; SLIFER, T.R.; ARAÚJO, F.G.; MORENO, S.N.; DOCAMPO, R.; CROFT, S.L. and OLDFIELD, E. *In vivo* activities of farnesyl pyrophosphate synthase inhibitors against *Leishmania donovani* and *Toxoplasma gondii*. **Antimicrob agents chemoter**, v.46, n.3, p.929-931, 2002.